

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek - Gent
RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ
Oostende
Directeur : P. HOVART

**ONDERZOEK NAAR DE AKUTE TOXICITEIT VAN
FENOLHOUDENDE AFVALSTOFFEN AFKOMSTIG VAN DE
KUNSTHARSPRODUKTIE OP SCHOL (PLEURONECTES
PLATESSA L.), GARNALEN (CRANGON CRANGON (L))
EN MOSSELEN (MYTILUS EDULIS L.).**

M. BAETEMAN.

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek - Gent
RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ
Oostende
Directeur : P. HOVART

**ONDERZOEK NAAR DE AKUTE TOXICITEIT VAN
FENOLHOUDENDE AFVALSTOFFEN AFKOMSTIG VAN DE
KUNSTHARSPRODUKTIE OP SCHOL (PLEURONECTES
PLATESSA L.), GARNALEN (CRANGON CRANGON (L))
EN MOSSELEN (MYTILUS EDULIS L.).**

M. BAETEMAN.

1. Inleiding.

Sinds geruime tijd worden fenolhoudende afvalstoffen afkomstig van de kunstharsproduktie in Belgische kustwateren geloosd.

Een onderzoek naar het fenolgehalte in water en mariene organismen wees uit dat de gemiddelde concentraties 6 µg/l bedragen voor water en 45 tot 90 µg/kg voor organismen.

Konform de Conventie van Oslo en teneinde een inzicht te verkrijgen in de toxiciteitsgraad van deze stoffen werd de akute toxiciteit ervan bepaald op een aantal mariene soorten, nl. schol, garnalen en mosselen.

De testen werden uitgevoerd op een representatief monster van de afvalstroom die vrijkomt bij de kunstharsproduktie, na verdunning met kanaalwater tot een fenolgehalte van 1,5 %.

Het produkt heeft volgende chemische samenstelling (gegevens door de fabriek verstrekt) :

- fenol	1,5 %
- methanol	0,5 %
- glycolen	0,3 %
- water	97,6 %
- vaste produkten	0,1 %
(fenolen en lage moleculair fenolharsen).	

Het betreft een vloeibaar produkt, goed mengbaar met zeewater (densiteit : 1,0049).

Vooraf werd het fenolgehalte bepaald.

2. Materiaal en methoden (2) tot (8).

2.1. Bepaling van fenolgehalte.

Het fenolgehalte van de afvalstof werd spectrofotometrisch bepaald met de 4-amino-antipyrine methode zoals voorgeschreven door Standard Methods met enkele modificaties (1). De door de fabriek geleverde monsters bevatten 1,6 % fenol.

2.2. Akute toxiciteitstesten.

Onder akute toxiciteitstesten wordt verstaan deze bij dewelke zowel de duur van blootstelling aan het pollutant, als de observatietijd kort zijn in relatie tot de levenscyclus van het testorganisme in kwestie. Het doel van de biologische observatie gedurende een toxiciteitstest bestaat erin de schadelijke effecten van toxische componenten op testorganismen te bepalen. Het primaire evaluatie criterium bij een akute toxiciteitstest is de dood van het testdier. Over het algemeen kan de mortaliteit zonder problemen worden vastgesteld. Effecten van niet-lethale aard, zoals immobiliteit, evenwichtsverlies, verstoord gedrag bij het zwemmen, verkleuring enz, kunnen tijdens een akute toxiciteitstest eveneens worden geobserveerd. Deze effecten kunnen bij de resultaten gerapporteerd worden met een duidelijke omschrijving ervan, doch een exakte kwantificatie is zeer problematisch. Deze gegevens zijn dan ook louter informatief.

De experimenten werden uitgevoerd in een semi-statisch systeem bestaande uit polyethyleenbakken van 60 l. Semi-statische testen verschillen van statische testen door het feit dat het test-medium, zeewater met een korrekte concentratie aan pollutant, op regelmatige tijdstippen wordt vernieuwd. Aldus worden concentratiewijzigingen ten gevolge van verdamping, opname door de organismen en chemische degradatie van de te onderzoeken stof, voorkomen. De frequentie van vernieuwing wordt ook bepaald op basis van de zuurstof-vraag van de testorganismen. In dit geval werd om de 24 uren vernieuwd.

Elk van de recipiënten, van een deksel voorzien teneinde evaporatie te vermijden, werd met 20 l test medium gevuld. Het pollutant werd in verschillende verhoudingen in synthetisch zeewater (H. W. Meeressalt, geleverd door H. Wiegandt, Krefeld, West-Duitsland) verdund.

Bij elke hernieuwing van het testmedium werden de fysico-chemische parameters gecontroleerd. Temperatuur ($12,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,0\text{ }^{\circ}\text{C}$), pH (normale pH van zeewater nl. $8,1 \pm 0,2$), saliniteit ($30,0\text{ }_{\text{‰}}$) en zuurstofgehalte (liefst de verzadigingswaarde benaderend, doch niet beneden 70 à 80 % van deze waarde) werden zo konstant mogelijk gehouden.

Bij de keuze van de testorganismen werd rekening gehouden met de representativiteit voor het mariene ecosysteem van de Belgische kust, de gevoeligheid voor toxische effecten, het gemakkelijk houdbaar zijn onder laboratoriumomstandigheden en de beschikbaarheid. De proeven werden uitgevoerd op 20 testorganismen per aquarium.

Er werd gebruik gemaakt van 0-jarige schol (Pleuronectes platessa L.), van volwassen garnalen (Crangon crangon (L.)) en van mosselen (Mytilus edulis L.) resp. representatieve species voor platvissen, schaaldieren en weekdieren, d.w.z. organismen die in Belgische kustwateren veelvuldig voorkomen.

De eerste twee soorten zijn daarenboven van groot commercieel belang. Mosselen worden niet gekweekt op commerciële schaal langs de Belgische kust, doch het zijn uitstekende testdieren, omdat het "filter-feeders" zijn ; zij transporteren namelijk aanzienlijke hoeveelheden water door hun kieuwen, niet alleen uit oogpunt van zuurstofopname, maar ook voor de opname van hun voedsel. Een mossel met een lengte van 5 à 6 cm filtreert 60 tot 120 l water per dag, waardoor dit organisme zeer gevoelig is voor afvalstoffen aanwezig in het water, zelfs bij zeer lage concentraties. Daar de afvalstoffen aldus ook doorheen het spijsverteringsstelsel getransporteerd worden, kunnen bepaalde be-

standdelen ervan in de weefsels akkumulieren. De hoeveelheden geakkumuleerd materiaal zijn evenredig met de respectievelijke concentraties in het omringende waterige milieu, waardoor mosselen niet alleen geschikt zijn als testorganismen, maar ook als monitoring-organismen.

De organismen werden in het infra-littoraal gerecruteerd met kleine handbediende sleepnetten. Hierbij werd gebruik gemaakt van het feit dat vele benthische soorten waaronder schol en garnalen zich bij ebbe terugtrekken vanuit de intertidale strook tot beneden de dieper gelegen laag-laag-waterlijn waar zij zich bij laag tij in grote getale bevinden.

De dieren moesten trapsgewijs aan de laboratoriumomstandigheden worden aangepast ; gedurende deze minstens één week durende adaptatieperiode werden zij met aangepast voedsel gevoederd en dit tot 24 uren vóór het begin van de testen. Tijdens de 96-uren-proeven werd geen voedsel toegediend ; wanneer het langer durende testen betrof, werd om de 2 dagen gevoederd. De etensresten werden in dat geval na 1 uur verwijderd.

Voor de hoge concentraties om het uur, voor de lage concentraties om de 24 u, werd het aantal levende organismen genoteerd en werden de dode individuen verwijderd. Bij de garnalen werd hierbij rekening gehouden met het onderling kannibalisme van de dieren tijdens het verschalen.

Bij het uitvoeren van de toxiciteitsproeven werd gestart met een 24-uren durende "screening-test". Aan de hand van deze test werd een grove schatting van de toxiciteit van het pollutant bekomen. In dit licht werd een tiendelige verdunningsreeks aangelegd. Volgende diluties werden gebruikt : 10.000 - 1.000 - 100 - 10 ppm.

Deze testen werden enkel uitgevoerd op schol en garnalen omdat de mosselen zeer frequent minder gevoelig zijn voor toxische componenten en over het algemeen eerder ongevoelig kunnen worden genoemd in toxiciteitstesten van korte duur ; door het dichtknijpen van de valven kunnen zij zichzelf voor verschillende dagen volledig van de buitenwereld afsluiten. Zodoende is een toxiciteitstest van 24 uren hier waardeloos en moet een akute toxiciteitstest met mosselen 2 tot 4 weken duren.

De percentages overlevenden na 24 uren en bij de verschillende concentraties van het pollutant werden vervolgens in grafiek uitgezet. Aan de hand van deze grafiek werd een grove benadering van LC_{50}^{24} bekomen (LC_{50} = de concentratie van de testverbinding voor dewelke in een opgegeven tijd 50 % van de organismen dood zijn).

In de volgende fase van het toxiciteitsonderzoek werden de grenzen binnen dewelke zich de LC_{50}^{24} bevindt, opgesplitst in een geometrische reeks met faktor $10^{0,25}$, hetgeen gebruikelijk is voor een routinetoxiciteitstest.

Naargelang het geval bleven de testen 96 uren of 14 dagen doorlopen.

Voor elke concentratie werd het percentage overlevenden tegenover de tijd uitgezet. Hieruit kon de ET_{50} worden afgeleid (Median Effective Time), d.w.z. de tijd nodig opdat bij een bepaalde concentratie van het pollutant 50 % van de testpopulatie een effect heeft ondergaan. Bij akute toxiciteitstesten is het bestudeerde effect de dood.

De bekomen ET_{50} 's werden in functie van de respektievelijke concentraties op logaritmisch papier uitgezet. Op deze manier werd een distributiekurve bekomen voor de mortaliteit die typisch is voor de aard van het pollutant en waaruit de TL_m -waarde (Median Tolerance Limit of de median Lethal Threshold concentration) kan worden afge-

leid, d.w.z. de drempelconcentratie voor 50 % mortaliteit. Deze drempelwaarde is de belangrijkste parameter in toxiciteitsstudies. In de regel moet iedere test, indien mogelijk, verder gezet worden tot deze waarde wordt bekomen.

Een normale ET_{50} -concentratie curve verloopt hyperbolisch ; de asymptoot geeft de drempelconcentratie die kan worden beschouwd als de "no-effect-level" of de concentratie beneden dewelke zich geen akuut-toxische effecten manifesteren.

Wanneer de ET_{50} -concentratie curve een rechte is dan zijn verschillende interpretaties mogelijk, nl. :

- testduur te kort,
- waarnemingen te laat gestart,
- waarnemingen te laat gestart en te vroeg beëindigd.

Een dergelijke "rechte" ET_{50} -concentratie curve is een goede reden om bio-akkumulatie onderzoek te overwegen.

Konvexe kurven komen zelden voor en wijzen op een complexe situatie. De teststof kan bv. een combinatie zijn van een substantie met lage toxiciteit en snel effect, samen met een substantie met hoge toxiciteit en traag effect. Soms kan de verbinding een substantie bevatten die laag-toxisch is, doch in de loop van de test in een hoog-toxische substantie wordt omgezet. Bij dergelijke konvexe kurven is interpretatie zeer moeilijk.

3. Resultaten.

3.1. ET_{50} -proeven op Pleuronectes platessa L.

Aan de hand van een voorafgaandelijke screening test kon worden afgeleid dat de LC_{50}^{24} gelegen was tussen 100 en 1.000 ppm (fig. 1).

Voor een routinetoxiciteitstest worden deze grenzen meestal opgesplitst in een geometrische reeks met factor $10^{0,25}$ ($= 1,8$), zodat aldus meestal 5 concentraties tegelijk worden uitgetest. Aangezien in dit geval, bij de bovengrens van 1.000 ppm, de testpopulatie niet volledig dood was, werd besloten de geometrische reeks uit te breiden met een paar concentraties. Zodoende werd volgende concentratiereeks aan een ET_{50}^{96} -test onderworpen : 0-100-180-320-560-1.000-1.800-3.200 ppm (fig. 2).

De ET_{50} -waarden hieruit afgeleid zijn de volgende :

$$ET_{50} (3.200 \text{ ppm}) = 2u00'$$

$$ET_{50} (1.800 \text{ ppm}) = 4u30'$$

$$ET_{50} (1.000 \text{ ppm}) = 21u00'$$

$$ET_{50} (560-320-180-100 \text{ ppm}) \text{ niet te bepalen na 96 uren.}$$

Voor deze laatste concentraties werd de proef verder gezet gedurende 14 dagen (fig. 3). Betrokken ET_{50} waarden waren nog niet vast te leggen na 14 dagen ($= 336$ uren). Uit zekerheidsoverweging werd besloten tussen 1.000 en 560 ppm een concentratie bij te nemen volgens een geometrische reeks met faktor $10^{0,125}$ ($= 1,3$), zoals toepasselijk in akkurate toxiciteitsstudies. Aldus werd een 96-uren-test uitgevoerd op 750 ppm waarbij een ET_{50} -waarde kon worden bepaald (fig. 2) :

$$ET_{50} (750 \text{ ppm}) = 35u00'$$

Deze ET_{50} -waarden, in uren, werden vervolgens op logaritmisch papier in functie van hun resp. concentraties uitgezet. Uit de zogenaamde mortaliteitsdistributiecure (fig. 4) kon een TLm-waarde van 600 ppm worden afgeleid.

Tabel 1 geeft de temperatuur, zuurtegraad, opgeloste zuurstof en zoutgehalte bij de resp. verdunningen.

3.3 ET_{50} -proeven op Crangon crangon (L).

Bij middel van een screening-test werden de grenzen van toxiciteit bepaald :

$$1.000 \text{ ppm} < LC_{50}^{24} < 10.000 \text{ ppm (fig. 5)}$$

Rekening houdende met deze screening-test en met de resultaten van het toxiciteitsonderzoek op schol werd voor de ET_{50}^{120} -test gebruik gemaakt van een concentratiereeks volgens een geometrische serie met faktor $10^{0,125}$, gelegen tussen 5.600 en 560 ppm. In de intervallen 1.000-1.350 ppm en 1.350-1.800 ppm werd voor de duidelijkheid nog een supplementaire concentratie ingelast, zodat volgende reeks werd uitgetest : 5.600 - 3.200 - 2.400 - 1.800 - 1.550 - 1.350 - 1.150 - 1.000 - 560 - 0 ppm (fig. 6).

Garnalen vertonen een duidelijke neiging tot kannibalisme, vooral bij het verschalen, waarmee bij de tellingen rekening werd gehouden.

Volgende ET_{50} -waarden werden afgeleid :

$$ET_{50} (5.600 \text{ ppm}) = 2u00'$$

$$ET_{50} (3.200 \text{ ppm}) = 3u30'$$

$$ET_{50} (2.400 \text{ ppm}) = 21u30''$$

$$ET_{50} (1.800 \text{ ppm}) = 59u00'$$

$$ET_{50} (1.550 \text{ ppm}) = 79u00'$$

ET_{50} (1.350 - 1.150 - 1.000 - 560 ppm) niet te bepalen na 120 uren.

De bekomen ET_{50} -waarden, in uren op logaritmisch papier uitgezet in functie van de resp. concentraties leidden tot een TL_m -waarde van 1.500 ppm.

Als opmerking kan hier nog worden vermeld, dat de garnalen tijdens de proeven een lichte verkleuring vertoonden, meer bepaald een soort witte afzetting, vooral gekoncentreerd op de poten.

Tabel 1 geeft temperatuur, zuurtegraad, opgeloste zuurstof en zoutgehalte bij de resp. verdunningen.

3.3. ET_{50} -proeven op Mytilus edulis L.

Voor mosselen is het enerzijds zinloos om toxiciteitstesten van korte duur uit te voeren en anderzijds kan een lagere gevoeligheid verondersteld worden. Daarom werd besloten om onmiddellijk tot een ET_{50}^{96} -test over te gaan, waarbij de volgende concentratiereeks werd aangewend :

32.000 - 18.000 - 10.000 - 5.600 - 0 ppm, zijnde een geometrische reeks met factor $10^{0,25}$. Hieruit kon slechts één ET_{50} -waarde worden afgeleid, nl :

$$ET_{50} (32.000 \text{ ppm}) = 2u30'$$

14 dagen

Daarop werd een nieuwe ET_{50} -test opgezet met dezelfde concentratiereeks waaraan nog enkele concentraties werden toegevoegd. Dit leverde de volgende ET_{50} -waarden op :

$$ET_{50} (27.000 \text{ ppm}) = 24u00$$

$$ET_{50} (22.000 \text{ ppm}) = 149u00$$

$$ET_{50} (18.000 \text{ ppm}) = 240u00$$

$$ET_{50} (10.000 \text{ ppm}) \text{ niet te bepalen na 14 dagen}$$

5.600 ppm levert na 14 dagen hetzelfde beeld op als de blancotest.

Deze ET_{50} -waarden uitgezet op logaritmisch papier in functie van hun resp. concentraties leidden niet tot een hyperbolische curve met asymptotische TL_m -waarde, waardoor niet kan worden gesproken van een

"mortaliteitsdistributiekurve" (fig. 10) en de tolerantielimiet werd hier dan ook niet bereikt. De ligging van de rechte wijst er wel op dat de testduur te kort was.

Met dergelijke ET_{50} -koncentratie kurve zou kunnen worden overgegaan tot een (sub)chronische studie of tot bioaccumulatietesten, hetgeen echter niet de opzet was van dit onderzoek. Anderzijds zou het voor de hand liggen de testduur tot een maand uit te breiden, doch na een periode van 14 dagen zonder voedsel is de konditie van de dieren sterk afgezwakt, zodat dit moet worden vermeden. Daar duidelijk bleek dat de mosselen minder gevoelig waren dan de eerste twee organismen werd besloten het onderzoek hiermee af te ronden. Als opmerking kan hier nog worden vermeld, dat de mosselen, zonder uitzondering, allen stierven met volledig uitgerokken voet, hetgeen abnormaal is.

Temperatuur, zuurtegraad, opgeloste zuurstof en zoutgehalte bij de resp. verdunningen worden weergegeven in tabel 1.

4. Besluiten.

Bij vergelijking van de resultaten bekomen met de drie organismen bleek schol het gevoeligst te zijn t.o.v. de afvalstof. De TL_m -waarden bedroegen voor Pleuronectes platessa L. : 600 ppm, voor Crangon crangon (L.) : 1.500 ppm en voor Mytilus edulis L. : niet bepaald, doch duidelijk hoger.

Rekening houdend met een veiligheidsfactor 10, leidt dit tot een maximaal toelaatbare concentratie tijdens het lozen van 60 ppm op de dumpingsplaats zelf, wat een initiële dilutie betekent van 16667. Indien dit strikt wordt gevolgd mag worden aangenomen dat het betrokken afvalprodukt geen acuut toxische effecten op de mariene fauna zal hebben.

Om aan deze voorwaarde te kunnen voldoen, rekening houdend met het feit dat de minimum dilutie van 16.667 in het schroefwater van het schip binnen één minuut (vooropgestelde initiële dilutie) moet worden verzekerd, kunnen de aanvaardbare dumpingsvoorwaarden als volgt worden berekend :

$$C_D Q_D = 0,003 V^{1,4} \cdot L^{1,6} \cdot t^{0,4} C_P \quad (*)$$

waarin C_D = concentratie van de afval op het ogenblik van de lozing ;

Q_D = hoeveelheid die per tijdseenheid mag worden geloosd ;

V = snelheid van het schip ;

t = tijd binnen dewelke de initiële dilutie moet bereikt zijn
(hier 60 sec.) ;

C_P = concentratie van de afval in het schroefwater op tijdstip
"t" na de lozing ;

L = lengte van het schip.

In dit voorbeeld bedraagt de dilutie C_D/C_P 16667 (de waarde uitgaande van de veronderstelling dat de afvalstof wordt geloosd, na voorafgaandelijke menging met kanaalwater, zoals door de fabriek gepreciseerd)

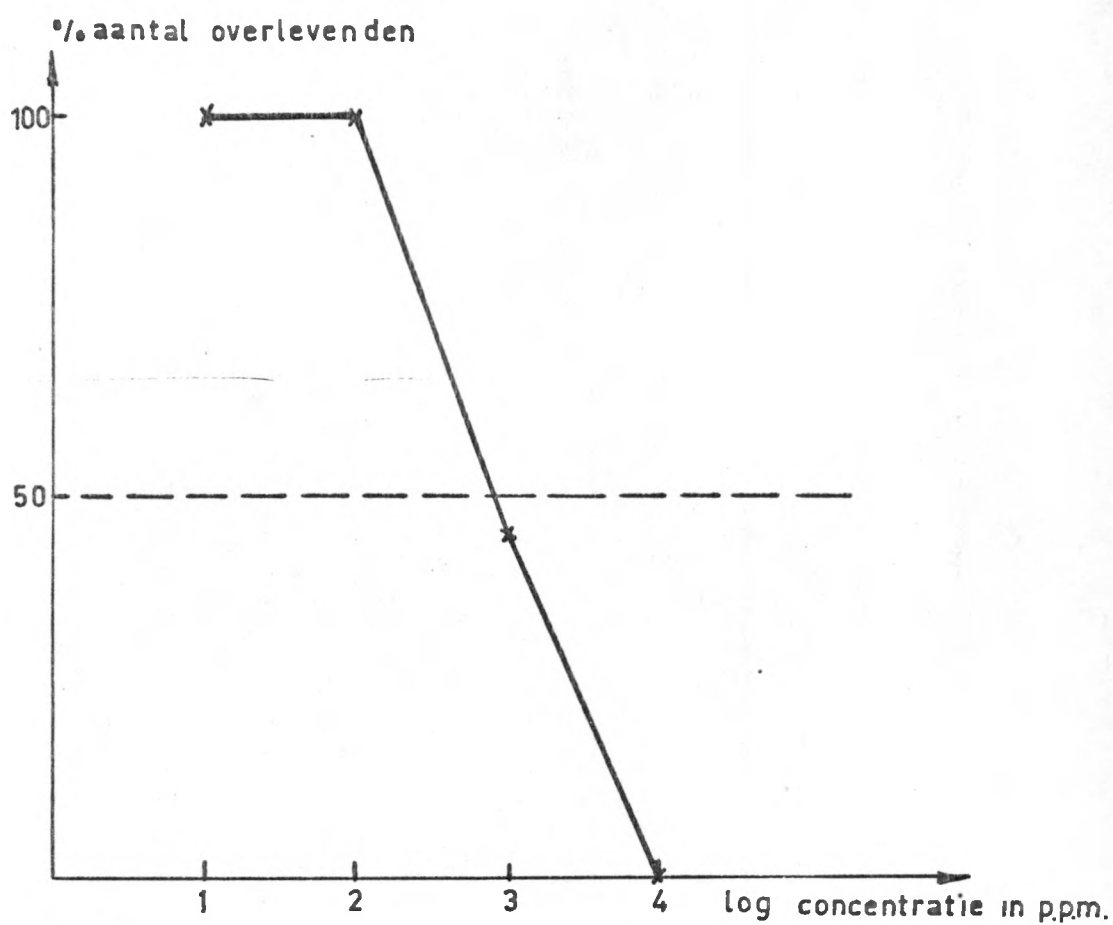
Uit bovenstaande formule kan de toelaatbare hoeveelheid te lozen afvalwater per tijdseenheid (Q_D) voor elk schip worden berekend, teneinde de dilutie van 16.667 binnen 1 minuut te kunnen bereiken.

Deze in vitro proeven moeten aangevuld worden met een kontinu monitoringsprogramma in situ met het doel de effecten op lange termijn te kunnen controleren.

(*) Formule afkomstig van de "Commission for the Protection of the Environment of IMCO" (9).

Tabel 1 - Temperatuur, zuurtegraad, opgeloste zuurstof (OZ) en saliniteitswaarden tijdens de proeven.

Toegevoegde hoeveelheden in ppm	t °C	pH	S ‰	OZ (ppm)
0	12,0	8,3	30,1	8,1
100	12,4	8,3	30,2	7,9
180	12,3	8,3	30,8	8,2
320	12,0	8,3	29,9	8,0
560	12,0	8,2	30,0	8,1
750	12,5	8,3	30,2	8,0
1000	12,0	8,3	30,5	7,9
1150	12,6	8,3	30,0	8,0
1350	12,2	8,3	30,6	8,2
1550	12,3	8,3	30,0	7,8
1800	12,1	8,3	30,3	8,1
2400	11,9	8,3	29,9	7,9
3200	11,8	8,3	30,2	8,0
5600	12,2	8,2	30,0	7,8
10000	11,9	8,3	29,8	7,4
18000	12,3	8,3	29,0	7,7
22000	12,4	8,3	28,3	7,7
27000	12,6	8,3	28,1	7,6
32000	12,5	8,3	28,0	7,8



$$100 \text{ p.p.m.} < LC_{50}^{24} < 1000 \text{ p.p.m.}$$

Fig.1- Overlevings-concentratie curve van een LC_{50}^{24} -test
op Pleuronectes platessa L

Fig. 2 _ Overlevings _ tijd curve van een ET_{50}^{96} - test op Pleuronectes platessa L

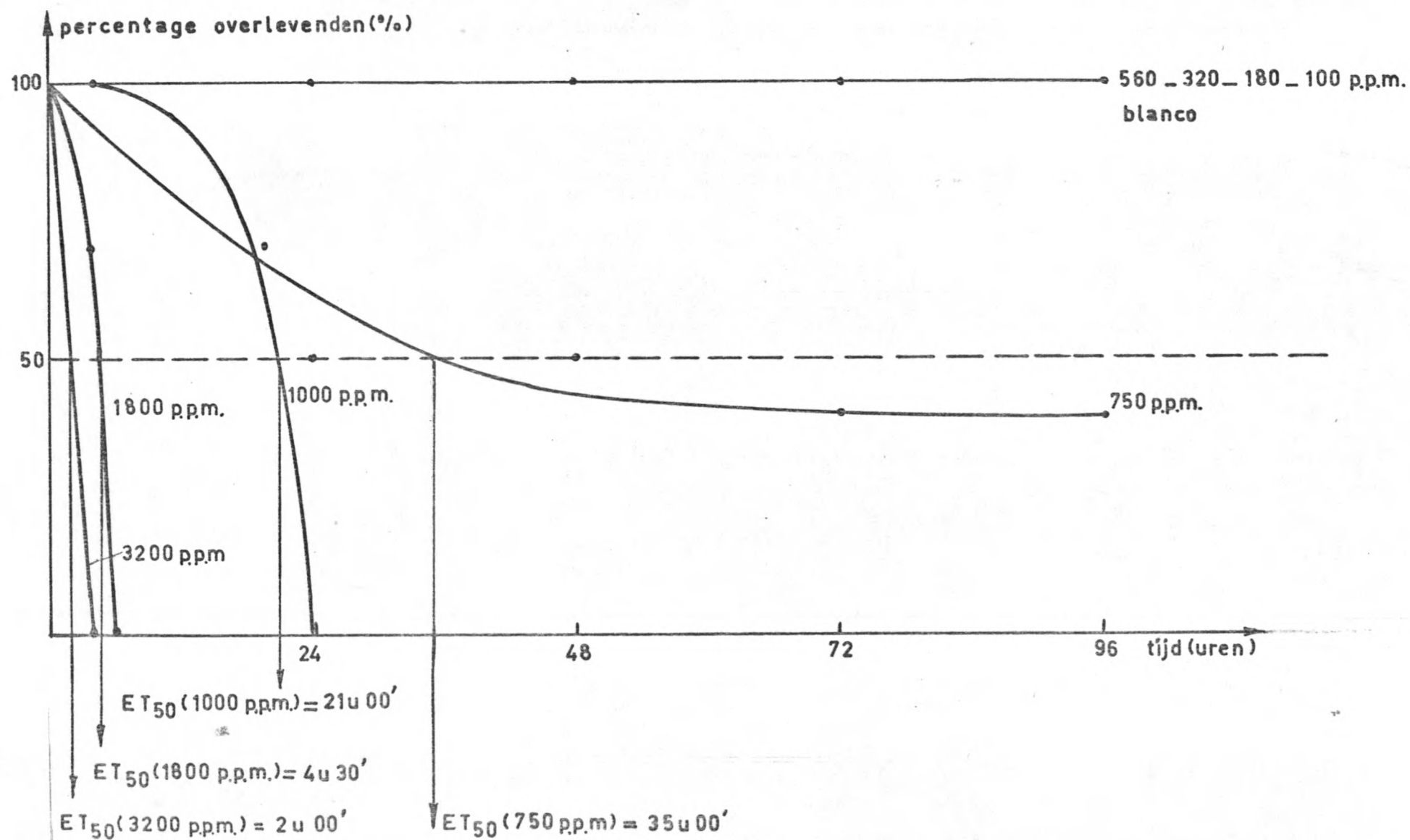


Fig. 3— Overlevings— tijd curve van een ET₅₀^{14 dagen} — test op Pleuronectes platessa L

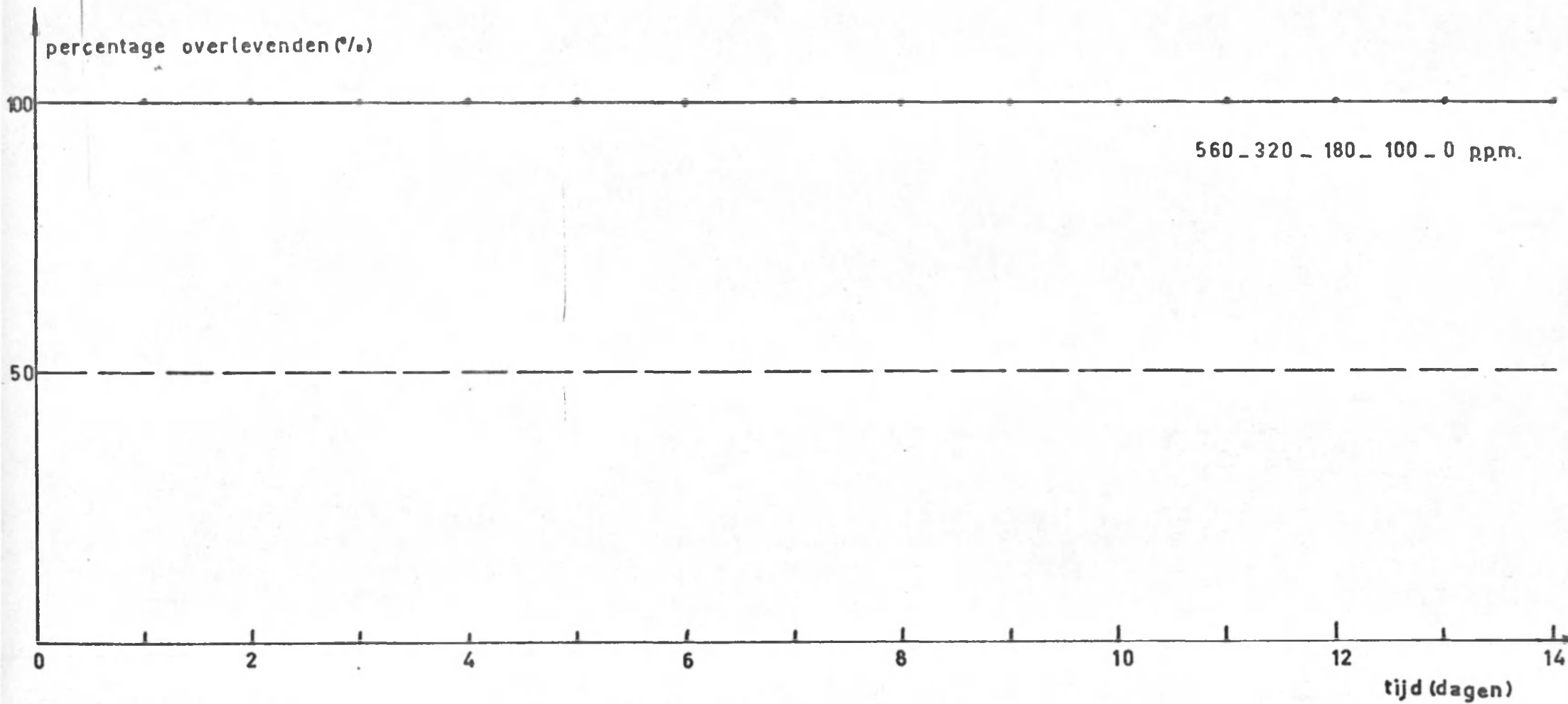
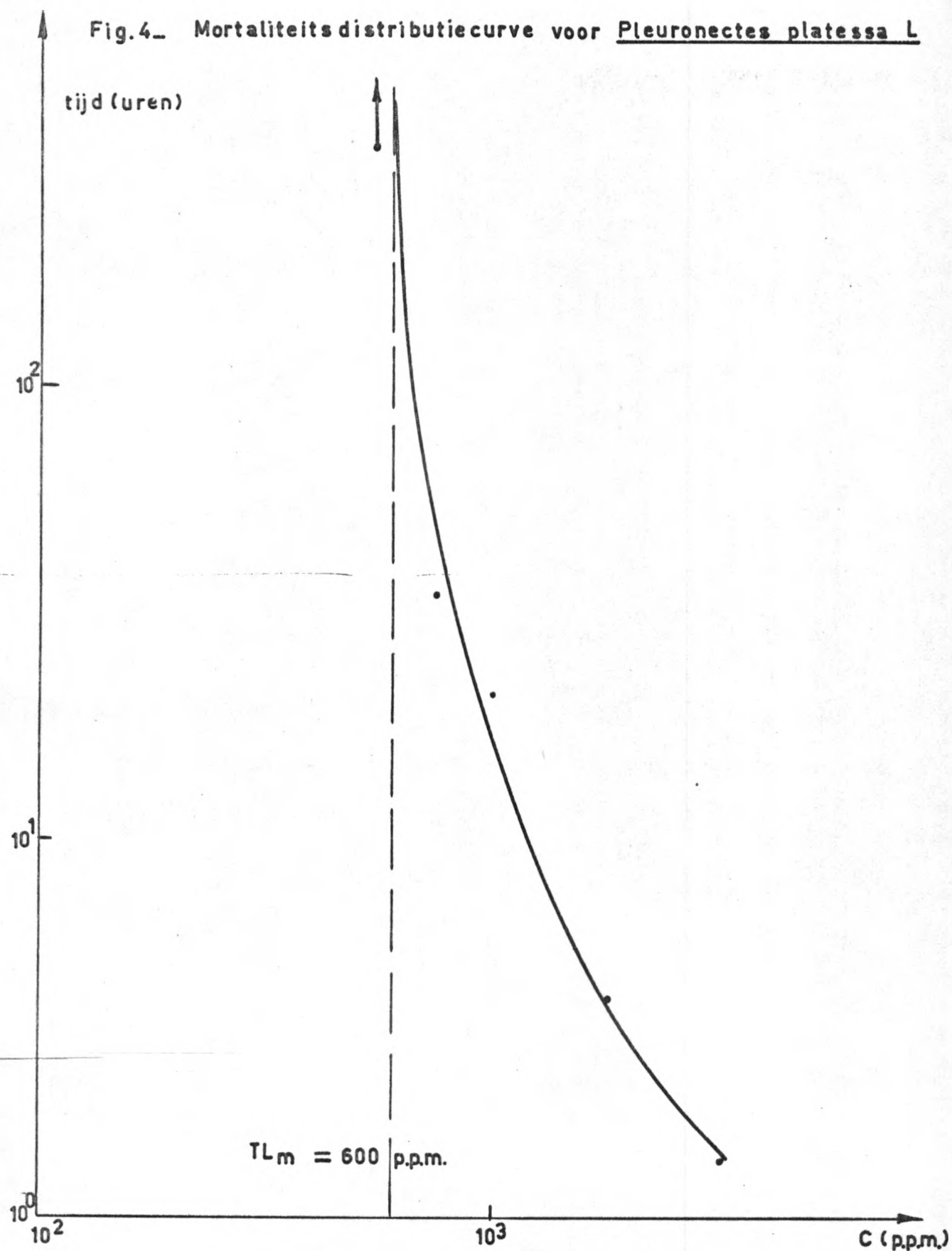
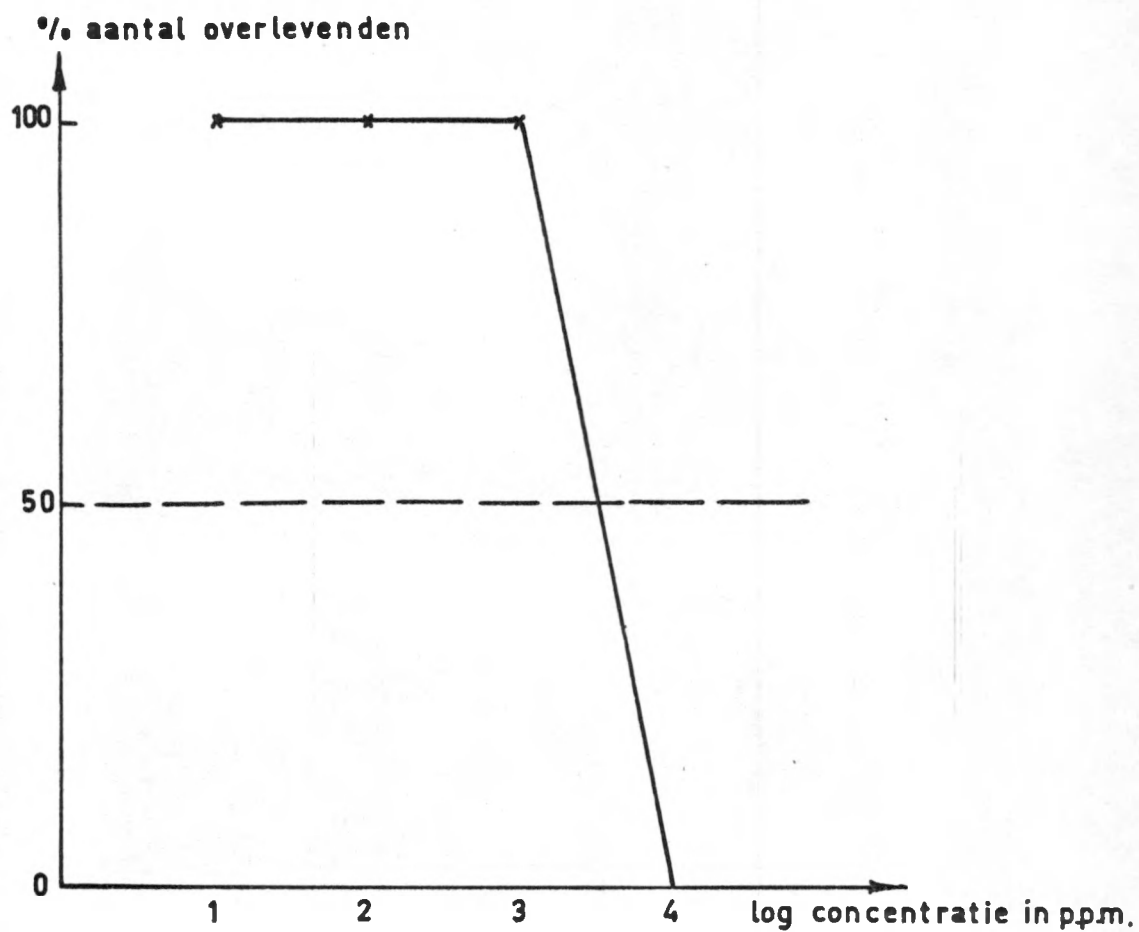


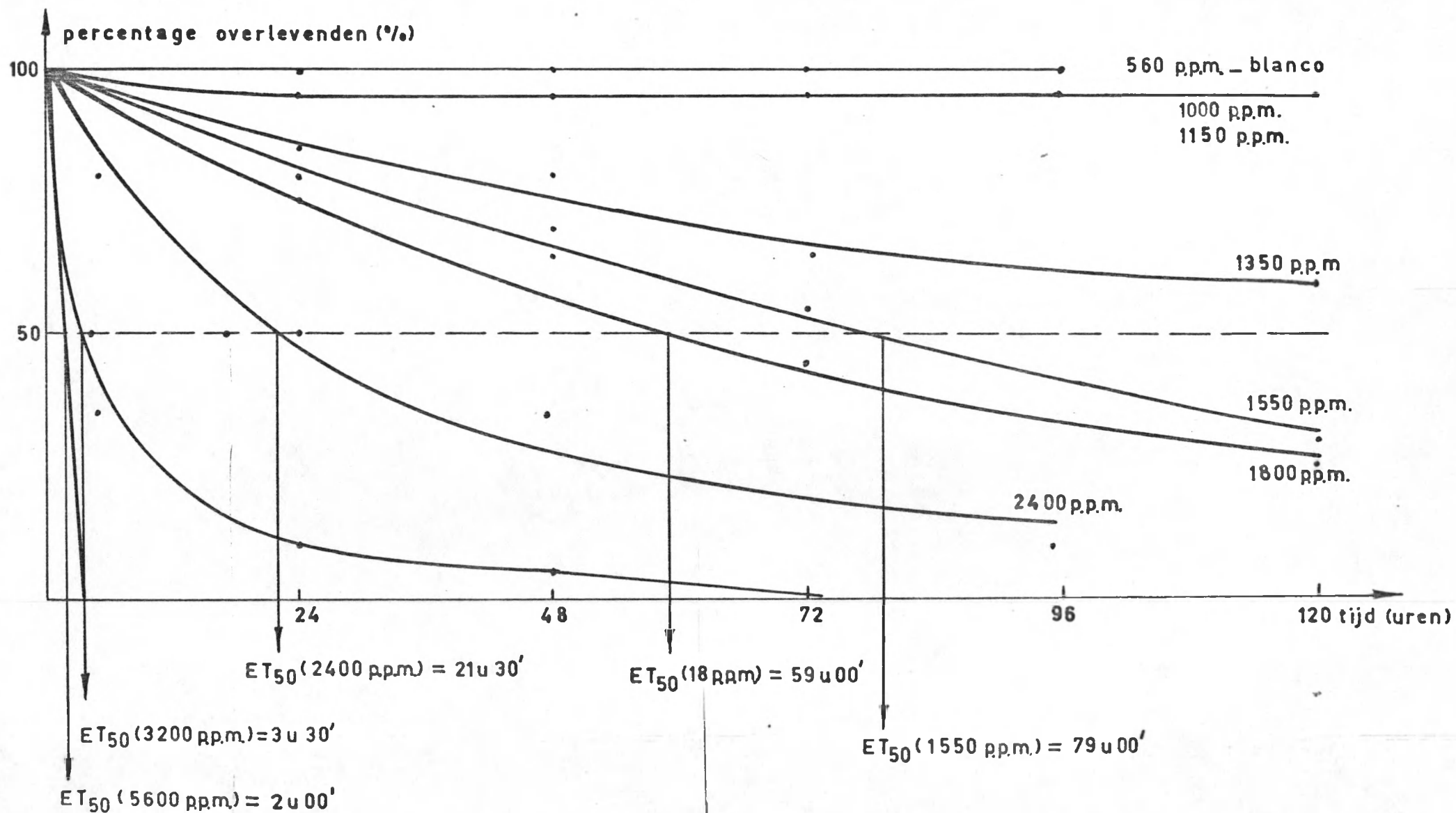
Fig.4_ Mortaliteits distributiecurve voor Pleuronectes platessa L



$$1000 \text{ ppm.} < \text{LC}_{50}^{24} < 10000 \text{ ppm.}$$

Fig. 5 - Overlevings - concentratie curve van een LC_{50}^{24} - test
op Cranon cranon (L)

Fig. 6. - Overlevings-tijd curve van een ET_{50}^{96} -test op Crangon crangon (L)



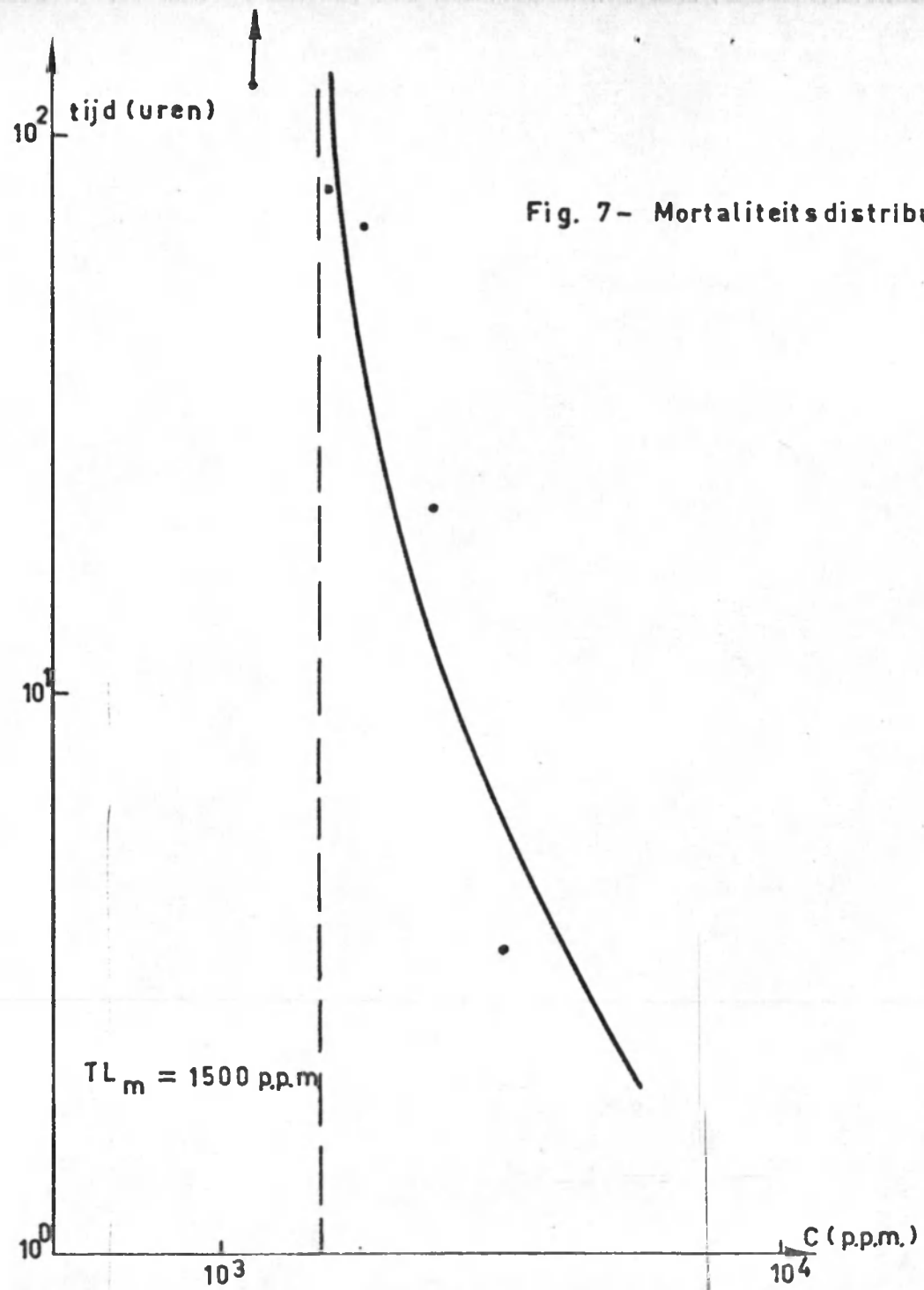


Fig. 7- Mortaliteitsdistributiecure voor Crangon crangon (L)

Fig.8 - Overlevings- tijd curve van een ET_{50}^{96} - test op Mytilus edulis L

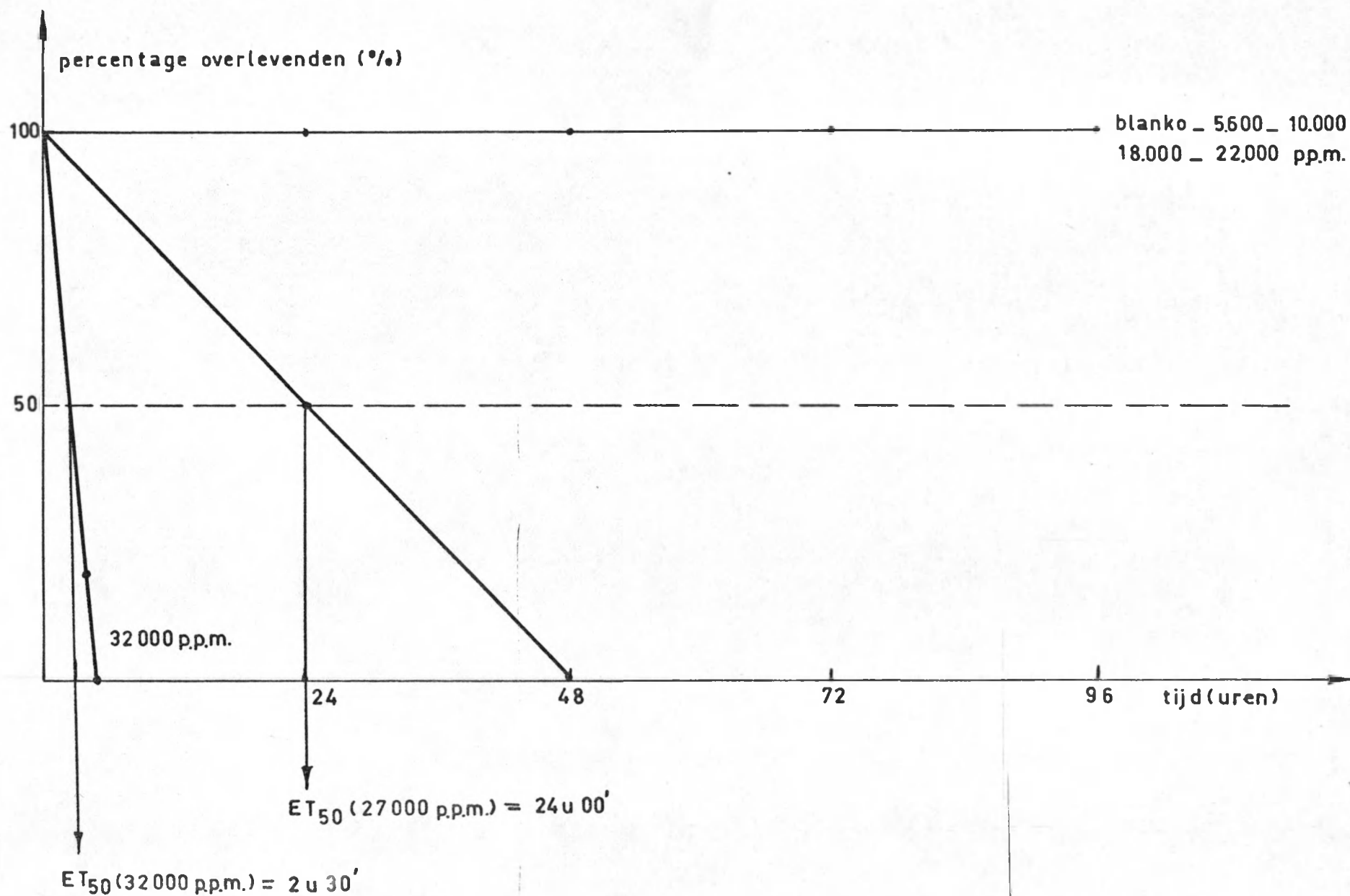


Fig 9 - Overlevings - tijd curve van een $ET_{50}^{14 \text{ dagen}}$ -test op Mytilus edulis L

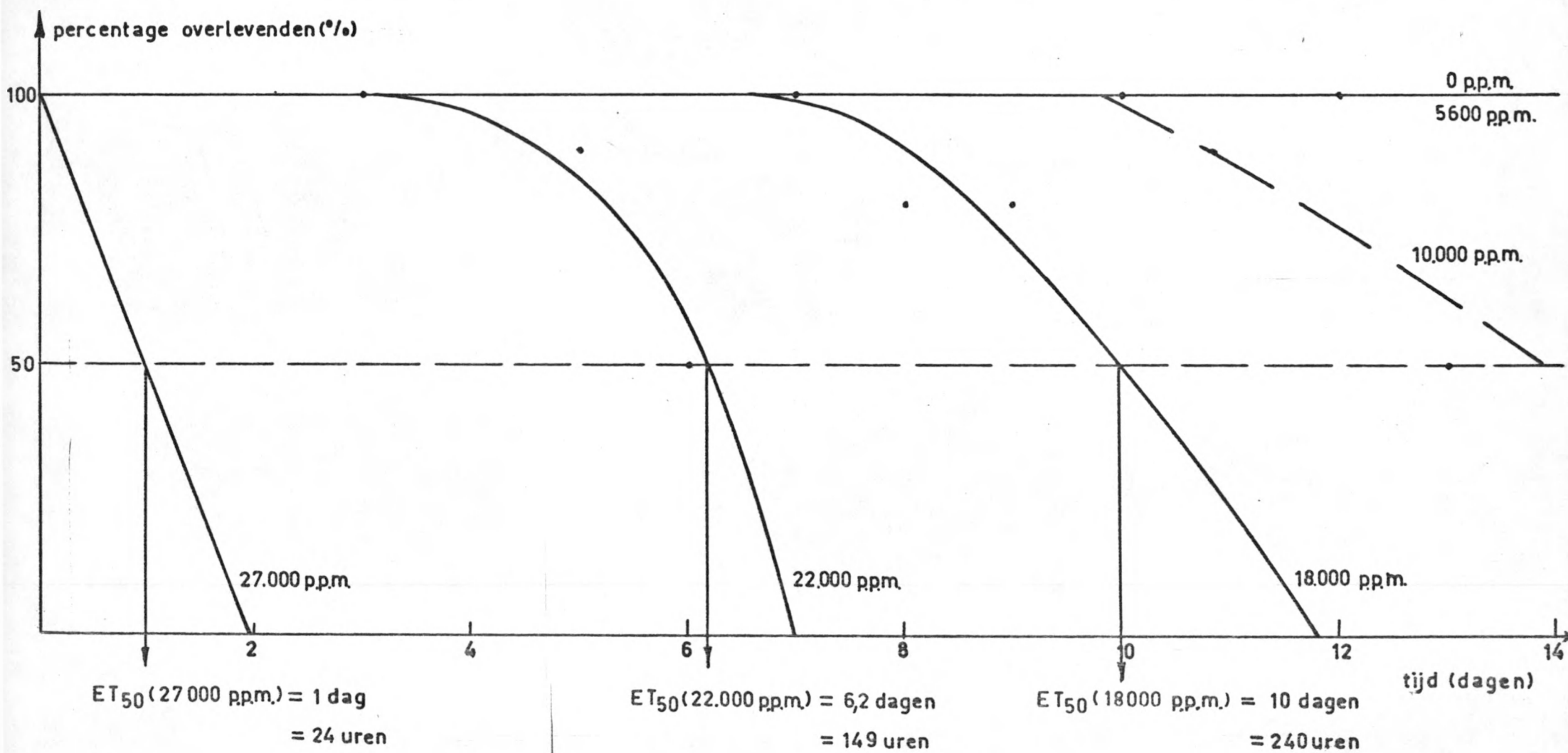
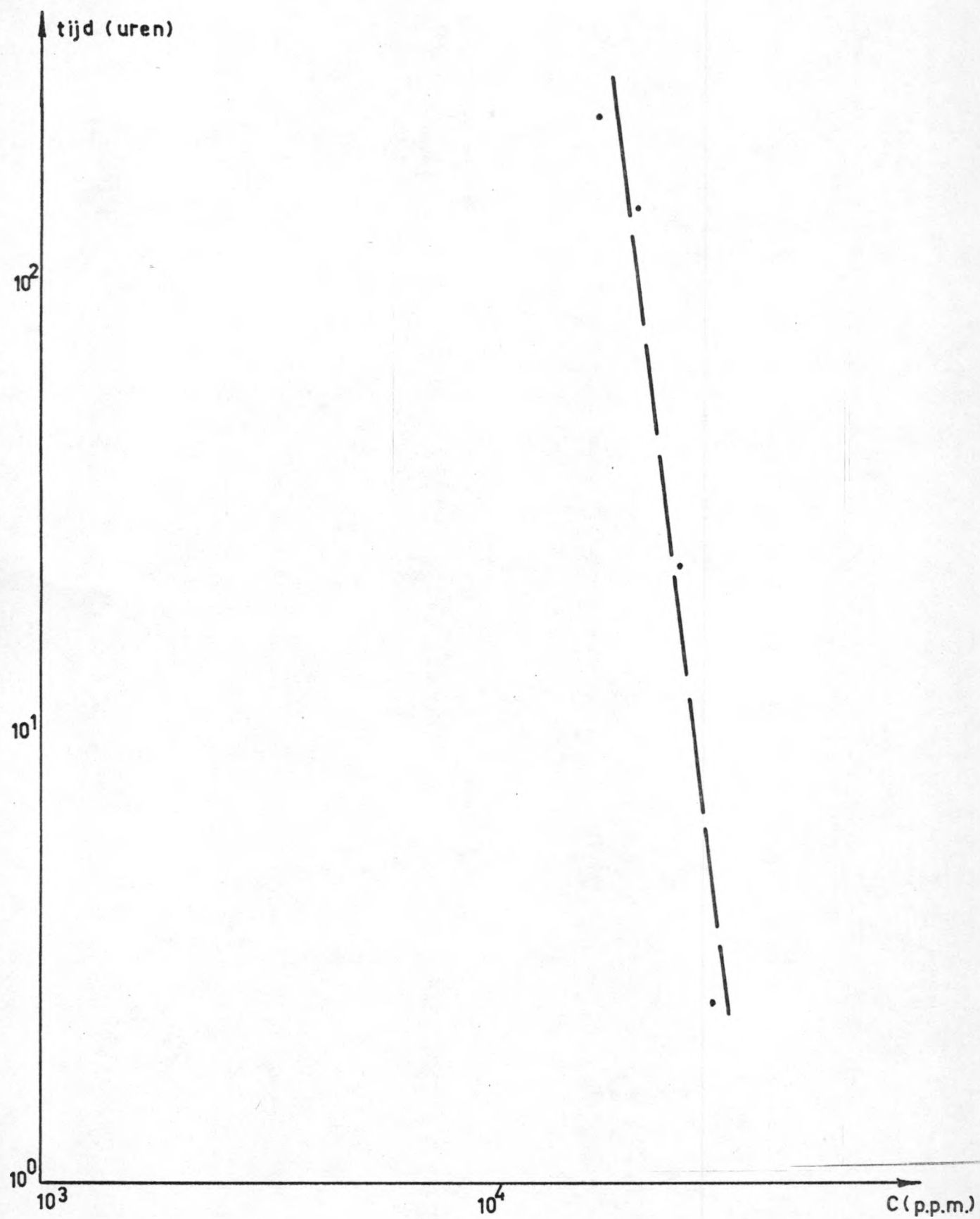


Fig. 10 — Mortaliteitsdistributiecure voor Mytilus edulis L

Referenties.

1. Baeteman, Monique ; Vyncke, W. (1979) :
Phenolic compounds in the water and marine organisms off the
Belgian coast.
Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (C.L.O. Gent),
Publicatie nr 157/1979.
2. Gesamp-Report (1973-IV/b) : Bio-assays and other techniques for
evaluation of lethal and sub-lethal effects of pollutants on marine
organisms.
3. Portmann, J.E. (1968) : Helgoländer wiss. Meeresunters. 17, 247-
256 (1968).
4. Sprangue, J.B. (1969) : Water Research Pergamon Press 1969,
Vol. 3, pp. 793-821.
5. Sprague, J.B. (1970) : Water Research Pergamon Press 1970,
Vol. 4, pp. 3-32.
6. Wilson, K.W. (1972) : ICES - Fisheries Improvement Committee -
C.M. 1972/E:15.
7. Wilson, K.W. ; Cornor, P.M. en Neale, P. (1974) : Oslo
Convention - Preparatory Committee Report.
8. The determination of the possible effects of chemicals and wastes
on the aquatic environment. Degradability, Ecotoxicity and Bio-
accumulation (TNO, Delft, The Netherlands, 1977).
9. Convention pour la prévention de la pollution marine par les opération
d'immersions effectuées par les navires et aeronefs (1978) :
Guide pratique pour l'immersion en mer de déchets acides provenant
de l'industrie du titane. Commission d'Oslo et London.

